

КЛЕТочный ИММУНный ОТВЕТ У РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕВЫХ БОРРЕЛИОЗОВ

Т.С. Запорожец¹, С.А. Сокотун², А.И. Симакова², Е.В. Персиянова^{1,3}

¹ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова, г. Владивосток, Россия

² Тихоокеанский государственный медицинский институт, г. Владивосток, Россия

³ Медицинское объединение ДВО РАН, г. Владивосток, Россия

Резюме. Иксодовый клещевой боррелиоз — природно-очаговое трансмиссивное инфекционное полисистемное заболевание со сложным патогенезом, многие аспекты которого остаются невыясненными. Наиболее сложной в клинической практике является стадия персистенции, связанная с длительным присутствием боррелий в метастатических очагах и их повторной многократной диссеминацией. Механизмы, лежащие в основе хронизации ИКБ, до конца не ясны. Предполагается, что хронизация может быть вызвана неадекватным иммунным ответом, связанным с активацией аутоиммунных механизмов, что приводит к формированию стойких необратимых изменений (дегенеративных и атрофических) в пораженных органах. В этой связи за пациентами, перенесшими клещевой боррелиоз, необходимо динамическое наблюдение с целью определения прогноза заболевания и проведения поддерживающей терапии. Настоящее исследование предпринято с целью оценки возможности использования показателей клеточного иммунитета для прогноза хронизации ИКБ. **Материалы и методы.** Исследования проведены на базе ФГБУЗ «Медицинское объединение ДВО РАН». Материалом исследования являлись данные индивидуальных карт 22 пациентов от 29 до 83 лет, сыворотка и плазма крови. Проанализированы результаты иммунологического обследования пациентов с иксодовым клещевым боррелиозом в анамнезе через 12–18 месяцев от острого периода заболевания. Специфические антитела к *Borrelia burgdorferi* классов IgM и IgG определяли с использованием диагностической тест-системы фирмы ООО «ОМНИКС» (Санкт-Петербург). Иммунофенотипирование лимфоцитов проводили на цитофлуориметре BD FACSCalibur (Becton Dickinson, США) с использованием моноклональных антител с двойной меткой (Beckman Coulter, Франция). **Результаты.** В результате комплексной оценки функционального состояния показателей клеточного иммунитета у пациентов с ИКБ в анамнезе установлена вариабельность степени активации лимфоцитов периферической крови, свидетельствующая о наличии индивидуальности реакции иммунной системы. Дисбаланс клеточного иммунного ответа, регистрируемый у серонегативных реконвалесцентов ИКБ, может быть косвенным свидетельством продолжающегося инфицирования боррелиями. Наличие в сыворотке крови реконвалесцентов боррелиоза на поздних сроках специфических IgG и IgM антител на фоне дисбаланса иммунной системы является настораживающим фактором в отношении склонности к развитию аутоиммунных реакций. К маркерным показателям возможной хронизации боррелиоза на поздних сроках заболевания может быть отнесено сочетание обнаруженных специфических IgM антител с увеличением цитотоксического потенциала иммунной системы.

Ключевые слова: иксодовый клещевой боррелиоз, специфические антитела, иммунная система, клеточный иммунный ответ.

Адрес для переписки:

Запорожец Татьяна Станиславовна
690087, Россия, г. Владивосток, ул. Сельская, 1,
НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова.
Тел.: 8 (423) 244-24-34. Факс: 8 (423) 244-14-38.
E-mail: niem_vl@mail.ru

Contacts:

Tatiana S. Zaporozhets
690087, Russian Federation, Vladivostok, Selskaya str., 1,
Somov Institute of Epidemiology and Microbiology.
Phone: +7 (423) 244-24-34. Fax: +7 (423) 244-14-38.
E-mail: niem_vl@mail.ru

Библиографическое описание:

Запорожец Т.С., Сокотун С.А., Симакова А.И., Персиянова Е.В.
Клеточный иммунный ответ у реконвалесцентов иксодовых клещевых
боррелиозов // Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9, № 5–6. С. 695–702.
doi: 10.15789/2220-7619-2019-5-6-695-702

Citation:

Zaporozhets T.S., Sokotun S.A., Simakova A.I., Persyanova E.V., Cellular
immune response in convalescents from Ixodes tick-borne borreliosis //
Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2019,
vol. 9, no. 5–6, pp. 695–702. doi: 10.15789/2220-7619-2019-5-6-695-702

CELLULAR IMMUNE RESPONSE IN CONVALESCENTS FROM IXODES TICK-BORNE BORRELIOSISZaporozhets T.S.^a, Sokotun S.A.^b, Simakova A.I.^b, Persiyanova E.V.^{a,c}^a Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation^b Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation^c Medical Department of Far East Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. Ixodes tick-borne borreliosis is a natural focal transmissible infectious multi-system disease featured with complex pathogenesis, which multiple aspects remain unclarified. The persistence stage during this infection associated with prolonged *Borrelia* presence in metastatic foci and repeated multiple dissemination is most complicated for clinical practice. It is assumed that the chronic process can be caused by an inadequate immune response associated with activated autoimmune mechanisms leading to emergence of permanent irreversible (degenerative and atrophic) changes in affected organs. Patients who experienced tick-borne borreliosis need dynamic observation for assessing disease prognosis providing a maintenance therapy. The purpose of the study was to evaluate an opportunity of using cellular immunity indices for predicting disease transition to a chronic course. *Materials and methods.* The study was carried out at the Medical Association of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences. Case report form data, serum and blood plasma samples collected from 22 patients aged 29–83 years old were examined. Immunological examination data from patients with ixodes tick-borne borreliosis (12–18 months after the onset of acute period) were analyzed. Specific IgM and IgG against *Borrelia burgdorferi* were determined by using the OMNICS diagnostic test system (St. Petersburg). Lymphocyte immunophenotyping was performed on BD FACSCalibur flow cytometer (Becton Dickinson, USA) by using double-labeled monoclonal antibodies (Beckman Coulter, France). *Results.* A variability of activated peripheral blood lymphocytes was found in patients with tick-borne borreliosis evidencing about individual immune response. An imbalanced cellular immune response recorded in seronegative convalescents from tick-borne borreliosis, may be an indirect finding of ongoing *Borrelia* infection. Finding of specific serum IgG and IgM antibodies in convalescents at late stage coupled to impaired immune system is a warning sign presuming a risk to developing autoimmune reactions. Detection of specific IgM antibodies at late timepoint combined with increased immune cytotoxic potential may be referred to a marker of possible disease transition to chronic course.

Key words: ixodial tick-borne borreliosis, specific antibodies, immune system, cellular immune response.

Введение

Иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ) в настоящее время рассматривается как природно-очаговое трансмиссивное инфекционное полисистемное заболевание со сложным патогенезом, многие аспекты которого остаются невыясненными [2, 3]. Согласно общепринятому взгляду, в течении боррелиозной инфекции выделяют три стадии развития: локальной инфекции, диссеминации боррелий, органных поражений [4]. Наиболее сложной в клинической практике является стадия персистенции, связанная с длительным присутствием возбудителей в метастатических очагах, их повторной многократной диссеминацией и возможным длительным сохранением у пациентов соматических и нейрокогнитивных симптомов. Данное состояние описывается как «хронический боррелиоз» или «постлаймский синдром». Наблюдение за такими пациентами крайне важно, от этого зависит тактика лечения и необходимость повторных пролонгированных курсов антибактериальной терапии [2, 3, 4]. До настоящего времени механизмы, лежащие в основе хронизации ИКБ, окончательно не установлены. Предполагается, что одной из основных причин является неадекватный иммунный ответ, связанный с нарушением супрессорных механизмов иммунной регуляции

Treg CD4⁺CD25⁺ Т-клетками, дисбалансом иммунорегуляторных цитокинов, изменениями субпопуляционного состава, низким уровнем бактерицидного потенциала нейтрофилов, что приводит к активации аутоиммунных механизмов и формированию постоянных необратимых изменений (дегенеративных и атрофических) в пораженных органах [3, 8, 12, 14]. Вместе с тем научное сообщество зачастую отвергает резистентную к лечению хроническую форму боррелиоза из-за невозможности обнаружить культивируемые, клинически значимые боррелии после стандартного лечения [10]. Тем не менее, врачи в попытках установить связь между *Borrelia burgdorferi* и клинически диагностированным хроническим боррелиозом обращаются к альтернативным тестам, таким как новые методы культивирования, обнаружение ДНК *B. burgdorferi* в образцах мочи, определение CD57 положительных лимфоцитов — зрелых NK-клеток в субпопуляции CD56^{dim}CD16⁺ NK-клеток человека [10, 11]. В качестве диагностических критериев возможной хронизации ИКБ в остром периоде заболевания предлагается оценивать антиген-стимулированную пролиферативную активность лимфоцитов и продукцию IFN γ и TGF- β 1 (нагрузочный тест с ультразвуковым лизатом *Borrelia garinii* в супернатантах культур клеток цельной крови) [1]. Принимая во внимание связывание белков, в большом

количестве синтезируемых *B. burgdorferi*, специфическими антителами, которые впоследствии могут быть захвачены иммунными комплексами (ИК), что делает антитела необнаруживаемыми стандартными методами анализа, Brunner M. и Sigal L.H. [6] использовали в качестве маркера продолжающейся или сохраняющейся инфекции уровень ИК-IgM, измеряемый с помощью модифицированного метода иммуноблотинга.

Несмотря на то что до настоящего времени нет четких доказательств решающей роли иммунологических нарушений в реализации патофизиологических механизмов хронического боррелиоза, точное определение иммунологических параметров должно быть определяющим при их использовании в диагностике и лечении этого заболевания.

Целью настоящего исследования являлась оценка возможности использования показателей клеточного иммунитета для прогноза возможной хронизации ИКБ.

Материалы и методы

Исследования проведены на базе ФГБУЗ «Медицинское объединение ДВО РАН». В исследовании принимали участие 22 пациента в возрасте от 29 до 83 лет (средний возраст $56,4 \pm 1,9$, мужчин 33,4%, женщин 66,6%). Срок с момента выписки пациентов из стационара, после перенесенного ИКБ, составил от 12 до 24 месяцев. Материалом исследования являлись данные индивидуальных карт, сыворотка и плазма крови. Забор венозной крови для биохимических и иммунологических исследований проводили в равных условиях (утром, натощак, в количестве 12–15 мл). С целью сравнения исследуемых показателей использовали кровь 30 условно здоровых доноров.

Критерии включения: пациенты, которые ранее наблюдались или получали лечение по поводу ИКБ с позитивными заключениями лабораторного тестирования в анамнезе (ИФА, полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) для детекции РНК боррелий).

Критерии исключения: пациенты с отсутствием клинических, эпидемиологических и лабораторных данных о заболевании ИКБ.

Оценка здоровья пациентов проводилась по клиническим показателям — общее состояние, состояние различных органов и систем организма (использовались методы врачебного контроля, характеризующие клиническое состояние пациентов); по лабораторным показателям.

Иммунофенотипирование лимфоцитов проводили на цитофлюориметре «BD FACSCalibur» (Becton Dickinson, США) с использованием

моноклональных антител с двойной меткой: CD3⁺CD19⁻, CD3⁺CD19⁺, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺, CD3⁺CD16⁺CD56⁺, CD3⁺CD16⁺CD56⁺, CD3⁺CD25⁺, CD3⁺CD95⁺, CD3⁺CDHLA-DR⁺ (Becton Dickinson, США), CD3-FITC/CD25-PE, CD3-FITC/CD95-PE, CD3-FITC/HLA-DR-PE (Beckman Coulter, Франция).

Выявление специфических антител классов IgM и IgG к *Borrelia burgdorferi* проводили с использованием диагностической тест-системы (ООО «ОМНИКС», Санкт-Петербург) в лаборатории флавивирусных инфекций НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова (зав. лабораторией — д.м.н., профессор Леонова Галина Николаевна).

Статистическая обработка результатов проведена с использованием лицензионного программного пакета Statistica 8.0 (StatSoft, Incorporated, США) и Microsoft® Excel 2011 (Microsoft Corporation, США). Использовали метод проверки нормальности распределения количественных признаков при малом числе наблюдений (W-критерий Шапиро–Уилка), для оценки значимости различий при нормальном распределении количественных признаков t-критерий Стьюдента, при распределении, отличающемся от нормального — критерий Манна–Уитни (U). Выборочные параметры, приводимые далее в таблицах, имеют следующие обозначения: среднее арифметическое (M), стандартное отклонение (Σ), ошибка среднего арифметического (m), медиана (Me), нижний и верхний квартили (LQ–UQ), объем анализируемой группы (n), достигнутый уровень значимости (p). Уровень доверительной вероятности был задан равным 95%.

Результаты и обсуждение

Клинико-неврологическое наблюдение и лабораторное обследование пациентов проводилось с момента поступления их в клинику и до окончания этиотропного лечения в стационаре, а далее амбулаторно от 12 до 24 месяцев.

В ходе изучения клинических проявлений заболевания в остром периоде выявлена различная частота симптомов поражения нервной, сердечно-сосудистой систем, суставов (табл. 1). Преобладали жалобы на лихорадку, слабость, недомогание, плохой сон, раздражительность, головную боль, головокружение. При врачебном осмотре пациентов, перенесших ИКБ в течение предшествующих 12–24 месяцев, у двоих выявлены симптомы суставного синдрома, у одной пациентки регистрировалась неврологическая симптоматика. Некоторые пациенты предъявляли жалобы со стороны сердечно-сосудистой системы в виде более давящего и сжимающего характера в области сердца, сердцебие-

ние, ощущение перебоев. Учитывая наличие у них сопутствующей патологии (ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь) и отсутствие антител к боррелиям, мы не связывали данные симптомы с ИКБ. Рецидивов мигрирующих эритем, признаков развития хронического атрофического акродерматита и склеродермии не выявлено. Изменений в периферической крови не отмечено, все показатели находились в пределах физиологической нормы.

Таблица 1. Клиническая характеристика пациентов (в остром периоде), перенесших иксодовый клещевой боррелиоз

Table 1. Clinical characteristics of patients (in acute period) who underwent ixodid tick-borne borreliosis

Синдромы/симптомы Syndromes/symptoms	Частота выявления клинических и лабораторных признаков, % Frequency of detection of clinical and laboratory signs, %
Лихорадка: фебрильная/субфебрильная Fever: febrile/subfebrile	41,6
Интоксикационный синдром (слабость, недомогание, плохой сон, раздражительность) Intoxication syndrome (weakness, malaise, poor sleep, irritability)	41,6
Головная боль/головокружение Headache/dizziness	41,6
Чувство тяжести, тупые боли в правом подреберье Feeling of heaviness, dull pain in the right hypochondrium	16,7
Увеличение печени Liver enlargement	16,7
Тошнота/рвота Nausea/vomiting	8,3
Артралгии, миалгии Arthralgia, myalgia	25
Эритема на коже Erythema on the skin	100
Катаральный синдром Catarrhal syndrome	16,7
Выявление специфических антител Identification of specific antibodies	41,6
Отрицательный результат ИФА диагностики Negative result of ELISA diagnostics	58,4

Биохимические показатели также соответствовали норме. Специфические антитела выявлялись в 41,6% случаев.

Известно, что иммуноглобулины класса М появляются в крови пациента уже через неделю (чаще через 14 дней) после момента заражения, IgG — в среднем через 20–30 дней. По мере развития инфекции спектр основных антител меняется, однако их общий титр остается высоким, что позволяет с высокой надежностью установить наличие заболевания через месяцы и даже годы после укуса. Наше исследование показало, что антитела к боррелиям сохраняются более чем у половины пациентов спустя 12–24 месяцев после острого периода даже при клиническом выздоровлении. У 35% пациентов с выздоровлением после перенесенного острого ИКБ выявлялись специфические IgM-антитела к боррелиям. У части пациентов титр антител снижался по отношению к таковым в остром периоде, у некоторых регистрировалось повышение уровня IgM-антител. IgG-антитела к боррелиям были выявлены у шести пациентов.

Неопределенность симптоматики и разноречивость данных ПЦР-диагностики побудила нас проанализировать результаты иммунологического обследования пациентов с ИКБ в анамнезе через 12–24 месяцев от начала заболевания. В зависимости от наличия иммуноглобулинов класса М и класса G к *B. burgdorferi* в сыворотке крови пациентов, перенесших боррелиоз, объединили в следующие группы: IgM–IgG– реконвалесценты (11 пациентов), IgM+IgG– реконвалесценты (7 пациентов), IgM–IgG+ реконвалесценты (6 пациентов).

Мы провели анализ показателей клеточного и гуморального иммунитета у пациентов, перенесших ИКБ (включая уровень экспрессии активационных антигенов), в зависимости от наличия иммуноглобулинов класса М и класса G к *B. burgdorferi* в сыворотке крови.

Исследовали субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови — относительное количество и абсолютное содержание CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD3⁺CD16⁺CD56⁺ (NK), CD3⁺CD16⁺CD56⁺ (NKT), CD19⁺ лимфоцитов. Полученные данные анализировали с учетом нормальных иммунологических параметров здоровых доноров. Норму определяли как интервал исследуемого признака, включающего по одному и двум среднему квадратическому отклонению от среднего значения (M±1SD, M±2SD), при ненормальном распределении — как интервал значений между установленными произвольно нижними и верхними процентами общего диапазона Me (25–75%), Me (5–95%) (табл. 2, 3). Узкий нормативный диапазон соответствовал значениям, не выходящим за пределы одного стандартного отклонения от средне-

го значения, широкий нормативный диапазон соответствовал значениям двух стандартных отклонений. Все показатели, входящие в эти пределы являлись нормальными.

В результате проведенных исследований было установлено, что в усредненной выборке (все пациенты, перенесшие ИКБ) общее количество лейкоцитов периферической крови было значимо ниже показателей в группе здоровых доноров (5280 ± 1204 и 6002 ± 876 кл/мкл, $p < 0,05$, соответственно). Выявлено снижение относительного содержания и абсолютного количества лимфоцитов у реконвалесцентов ИКБ по сравнению с соответствующими показателями у здоровых лиц (табл. 2). Показатели, характеризующие структуру основных субпопуляций лимфоцитов периферической крови в усредненной выборке (все пациенты), находились в границах значений, констатирующих удовлетворительную функцию иммунной сис-

темы, хотя средние значения относительного содержания и абсолютного количества $CD3^+$, $CD3^+CD4^+$ и $CD3^+CD8^+$ лимфоцитов отличались от таковых у здоровых доноров (табл. 3). Иммунорегуляторный индекс (ИРИ), характеризующий напряженность Т-клеточного иммунитета пациентов, перенесших ИКБ ($1,8 \pm 0,6$), значимо не отличался от такового у здоровых доноров ($1,8 \pm 0,2$, $p > 0,05$). Вместе с тем отмечено увеличение относительного содержания клеток с цитотоксическим потенциалом — НК-клеток ($18,6 \pm 4,6\%$), НКТ-клеток ($6,9 \pm 3,8\%$, $p < 0,05$).

Анализируя показатели иммунного статуса у IgM^+ реконвалесцентов, некоторые исследователи связывают длительно сохраняющийся уровень специфических IgM с поражением функции Т-хелперов ($CD3^+CD4^+$ лимфоцитов), необходимых для переключения продукции IgM на IgG , а также снижением общего количе-

Таблица 2. Показатели клеточного иммунитета у пациентов, перенесших иксодовый клещевой боррелиоз

Table 2. Index of cellular immunity in patients who underwent tick-borne borreliosis

Показатель Indices	Группа К Здоровые доноры Group K Healthy donors			Все пациенты All patients	Группа $IgG-IgM-$ Group $IgG-IgM-$	Группа $IgM-IgG-$ Group $IgM-IgG-$	Группа $IgM-IgG+$ Group $IgM-IgG+$
	$M \pm 1SD$	$M \pm 2SD$	$M \pm \Sigma$				
Лейкоциты, кл/мкл Leukocytes, cells/ μ l	5200–7100	4130–8000	6002 \pm 876	5280 \pm 1204*	5290 \pm 1327*	4907 \pm 1075*	5430 \pm 1551
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	30–36	28–40	31,0 \pm 6,2	28,4 \pm 4,8	28,2 \pm 5,0	34,5 \pm 3,8	33,8 \pm 5,2
Лимфоциты, кл/мкл Lymphocytes, cells/ μ l	1833–2527	1486–2874	1860 \pm 372	1478 \pm 237	1491 \pm 264	1692 \pm 400	1835 \pm 282
$CD3^+$, %	67,9–78,7	62,5–84,1	73,3 \pm 5,4	63,5 \pm 7,2	64,3 \pm 5,4	66,2 \pm 6,4	55,0 \pm 3,6*
$CD3^+$, кл/мкл $CD3^+$, cells/ μ l	1479–1715	1361–1833	1400 \pm 101	938 \pm 106*	958 \pm 80	1116 \pm 186	1009 \pm 66*
$CD3^+CD4^+$, %	42,0–50,2	37,9–54,3	46,1 \pm 4,1	37,0 \pm 6,0*	38,8 \pm 5,3	35,7 \pm 4,2*	38,3 \pm 2,3
$CD3^+CD4^+$, кл/мкл $CD3^+CD4^+$, cells/ μ l	984–1160	896–1248	902 \pm 212	546 \pm 88*	578 \pm 79	604 \pm 71*	702 \pm 42
$CD3^+CD8^+$, %	21,1–31,3	16,0–36,4	25,9 \pm 5,5	22,8 \pm 4,1*	23,5 \pm 5,3	30,8 \pm 6,3*	17,3 \pm 4,2*
$CD3^+CD8^+$, кл/мкл $CD3^+CD8^+$, cells/ μ l	464–688	352–700	481 \pm 123	336 \pm 60*	350 \pm 79	604 \pm 106*	317 \pm 77*
ИРИ ($CD4^+/CD8^+$) IRI ($CD4^+/CD8^+$)	1,6–2,0	1,4–2,2	1,8 \pm 0,2	1,8 \pm 0,6	1,7 \pm 0,4	1,2 \pm 0,5	2,2 \pm 0,3*
$CD19^+$, %	10,2–15,2	7,7–17,7	12,6 \pm 3,2	16,5 \pm 4,2	13,8 \pm 4,5	12,6 \pm 3,3	14,6 \pm 4,1
$CD19^+$, кл/мкл	224–334	169–389	230 \pm 54	243 \pm 62	205 \pm 67	213 \pm 55	267 \pm 75
$CD3-CD16^+CD56^+$, %	7,5–15,3	4,6–16,2	10,4 \pm 4,8	18,6 \pm 4,6*	18,5 \pm 5,6	20,6 \pm 7,9*	26,6 \pm 5,3*
$CD3-D16^+CD56^+$, кл/мкл	164–292	100–356	193 \pm 89	274 \pm 68*	275 \pm 46	348 \pm 133*	488 \pm 97*
$CD3^+CD16^+CD56^+$, %	1,30–4,40	0,50–7,30	3,2 \pm 1,7	6,9 \pm 3,8*	8,2 \pm 3,9	8,3 \pm 2,1*	2,9 \pm 1,3*

Примечание. Здесь и в таблице 3: * $p < 0,05$ — значимость различий (по сравнению с показателями в группе здоровых доноров).

Note. Here and in Table 3: * $p < 0,05$ — the significance of differences (compared to the indicators in the group of healthy donors).

Таблица 3. Уровень экспрессии активационных антигенов на лимфоцитах периферической крови пациентов перенесших иксодовый клещевой боррелиоз

Table 3. Level of expression of activation antigens on peripheral blood lymphocytes in patients who underwent tick-borne borreliosis

Показатель Indices	Группа К Здоровые доноры Group K Healthy donors			Все пациенты All patients	Группа IgM–IgG– Group IgM–IgG–	Группа IgM+IgG– через 1–2 года Group IgM+IgG– after 1–2 years	Группа IgM–IgG+ Group IgM–IgG+
	M±1SD	M±2SD	M±Σ				
Лимфоциты, кл/мкл Лимфоциты, cells/μl	1833–2527	1486–2874	1860±372	1478±237	1491±264	1692±400	1835±282
CD25 ⁺ , %	6,2–10	8,8–15,4	8,2±2,1	12,7±2,2*	12,3±2,4	11,1±2,4	14,3±2,5
CD25 ⁺ , кл/мкл CD25 ⁺ , cells/μl	113–256	127–431	147±43	187±33*	183±35*	187±40*	262±45*
CD95 ⁺ , %	16,4–26	11,6–30,8	20,4±7,1	29,3±4,9*	29,5±5,0	27,2±4,0	29,6±3,2
CD95 ⁺ , кл/мкл CD95 ⁺ , cells/μl	363–573	258–678	379±132	433±72*	439±74*	460±66*	543±58*
HLA-DR ⁺ , %	12,5–19,5	9–23	15,5±4,0	14,5±3,8	14,8±3,8	14,0±2,8	20,0±4,2
HLA-DR+CD3 ⁺ , кл/мкл HLA-DR+CD3 ⁺ , cells/μl	38–112	0–149	63±33	214±56*	220±56*	236±47*	367±77*

ства Т-лимфоцитов и клеток-супрессоров, что позже может привести к повреждению тканей из-за аутоиммунных реакций или усиленного ответа на боррелии [5, 12].

В нашем исследовании присутствие IgM антител в сыворотке крови пациентов, перенесших боррелиоз, было также сопряжено со значительным снижением относительного содержания и абсолютного количества CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов на фоне уменьшения общего количества лейкоцитов по сравнению с показателями у здоровых людей. Вместе с тем у пациентов, в крови которых сохранялись IgM-антитела, регистрировалось повышенное содержание НКТ, НК-клеток, CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов (табл. 2). Мы полагаем, что снижение численности CD4⁺ субпопуляции лимфоцитов у реконвалесцентов ИКБ, демонстрирует недостаточный Т-клеточный пролиферативный ответ на антигены боррелий, а увеличение цитотоксического потенциала иммунной системы может отражать повышенный уровень бактериальной нагрузки IgM⁺ у пациентов. В пользу этого предположения свидетельствуют данные исследований [9], показавшие способность мышиных и человеческих НКТ-клеток распознавать гликолипиды, в частности диацилглицерин *B. burgdorferi*. Эти данные указывают на то, что ответы НКТ-клеток, управляемые опосредованным Т-клеточным рецептором распознаванием гликолипидов, могут быть связаны с обеспечением защиты от *B. burgdorferi*.

У части пациентов на поздних сроках заболевания выявлялись специфические IgG антитела при отсутствии IgM. У них регистрировались наиболее низкие значения от-

носительного содержания CD3⁺ лимфоцитов (55,0±3,6%), CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов (17,3±4,2%), НКТ-клеток (2,9±1,3%) по сравнению с показателями в целой выборке, а также у IgM–IgG– и у IgM+IgG– реконвалесцентов. В то же время у IgG⁺ пациентов регистрировались более высокие значения относительного содержания НК-клеток (26,6±5,3%). Иммунорегуляторный индекс (2,2±0,3), характеризующий напряженность Т-клеточного иммунитета, значимо превышал таковой у IgM–IgG– и у IgM+IgG– пациентов (табл. 2).

Активационная модуляция иммунокомпетентных клеток, обусловленная воздействием различных (в том числе инфекционных) агентов, характеризуется изменением репертуара поверхностных молекул, последовательно отражающих происходящие в клетке процессы активации, пролиферации, дифференцировки, апоптоза, что позволяет оценить их вклад в формирование патологического процесса.

У всех реконвалесцентов ИКБ были выявлены признаки хронической Т-клеточной активации (в большей степени выраженной у IgG⁺ пациентов, перенесших ИКБ), сопряженной с увеличением количества циркулирующих Т-лимфоцитов, экспрессирующих активационные антигены — рецептор к интерлейкину-2 (CD25), апоптотический маркер CD95/Fas (табл. 3). Экспрессия HLA-DR (поздний активационный антиген) была повышена у IgG⁺ пациентов. Выраженное снижение относительного содержания и абсолютного количества CD3⁺CD8⁺ Т-клеток у IgG⁺ пациентов (по сравнению с показателями у здоровых до-

норов) на фоне увеличения длительной активации лимфоцитов может являться настораживающим фактором в отношении склонности к сильному гуморальному ответу, образованию аутоантител к собственным тканям и развитию аутоиммунных реакций [7].

Дополнительным фактором риска может являться низкий уровень НКТ-клеток, участвующих в контроле иммунных реакций. На моделях аутоиммунных заболеваний мышей показано, в частности, что дефицит НКТ обостряет течение заболевания, и наоборот, специфическая активация НКТ-клеток гликолипидными антигенами защищает мышей от развития аутоиммунных реакций [13].

В группе серонегативных пациентов (IgM–IgG– пациенты), несмотря на отсутствие специфических антител, клеточный иммунный ответ характеризовался снижением относительного содержания и абсолютного количества CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов и увеличением НК- и НКТ-клеток.

Таким образом, в результате комплексной оценки функционального состояния показате-

лей клеточного иммунитета у пациентов с ИКБ в анамнезе установлена вариабельность степени активации лимфоцитов периферической крови, свидетельствующая о наличии индивидуальности реакции иммунной системы.

Дисбаланс клеточного иммунного ответа, регистрируемый у серонегативных пациентов, перенесших ИКБ, может быть косвенным свидетельством продолжающегося инфицирования боррелиями.

Наличие в сыворотке крови специфических IgG- и IgM-антител в отдаленные сроки после клинического выздоровления, регистрируемое на фоне дисбаланса иммунной системы, является настораживающим фактором в отношении склонности к развитию аутоиммунных реакций.

К маркерным показателям возможной хронизации боррелиоза на поздних сроках заболевания может быть отнесено сочетание обнаруженных специфических IgM-антител с увеличением цитотоксического потенциала иммунной системы, а также IgG-антител, сопряженное со снижением содержания супрессорных и цитотоксических клеток.

Список литературы/References

1. Бараулина А.С., Кологривова Е.Н., Жукова О.Б., Чечина О.Е. Особенности продукции цитокинов при хронизации иксодового клещевого боррелиоза // Бюллетень сибирской медицины. 2010. Т. 9, № 1. С. 21–25. [Baraulina A.S., Kologrivova Ye.N., Zhukova O.B., Chechina O.Ye. Characteristics of production cytokines in patients with development of chronic tick-borne borreliosis. *Byulleten' sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine*, 2010, vol. 9, no. 1, pp. 21–25. (In Russ.)]
2. Лукашова Л.В., Карпова М.Р., Лепехин А.В., Пирогова Н.П., Жукова Н.Г., Киюцина Т.А., Добкина М.Н. Иксодовые клещевые боррелиозы // Бюллетень сибирской медицины. 2006. Т. 5, № 1. С. 59–66. [Loukashova L.V., Karpova M.R., Lepyokhin A.V., Pirogova N.P., Zhoukova N.G., Kiyutsina T.A., Dobkina M.N. Ixodes tick-borne borrelioses. *Byulleten' sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine*, 2006, vol. 5, no. 1, pp. 59–66. (In Russ.)]
3. Миноранская Н.С. Патогенетические и иммунологические особенности течения иксодовых клещевых боррелиозов // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2007. Т. 68, № 1. С. 5–9. [Minoranskaya N.S. Pathogenetic and immunologic peculiarities of ixodid tick-borne borreliosis. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk) = Siberian Medical Journal (Irkutsk)*, 2007, vol. 68, no. 1, pp. 5–9. (In Russ.)]
4. Мошкова Д.Ю., Авдеева М.Г. Клинико-иммунологические особенности воспалительного процесса при клещевом боррелиозе // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2016. Т. 21, № 2. С. 86–92. [Moshkova D.Yu., Avdeeva M.G. Clinical and immunological features of inflammation in Lyme borreliosis. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni = Epidemiology and Infectious Diseases*, 2016, vol. 21, no. 2, pp. 86–92. doi: 10.18821/1560-9529-2016-21-2-86-92 (In Russ.)]
5. Berardi V.P., Weeks K.E., Steere A.C. Serodiagnosis of early Lyme disease: analysis of IgM and IgG antibody responses by using an antibody-capture enzyme immunoassay. *J. Infect. Dis.*, 1988, vol. 158, no. 4, pp. 754–760.
6. Brunner M., Sigal L.H. Use of serum immune complexes in a new test that accurately confirms early Lyme disease and active infection with *Borrelia burgdorferi*. *J. Clin. Microbiol.*, 2001, vol. 39, no. 9, pp. 3213–3221. doi: 10.1128/JCM.39.9.3213-3221.2001
7. Dattwyler R.J., Thomas J.A., Benach J.L., Golightly M.G. Cellular immune response in Lyme disease: the response to mitogens, live *Borrelia burgdorferi*, NK cell function and lymphocyte subsets. *Zentralbl. Bakteriол. Mikrobiol. Hyg. A.*, 1986, vol. 263, no. 1–2, pp. 151–159.
8. Jarefors S., Janefjord C.K., Forsberg P., Jenmalm M.C., Ekerfelt C. Decreased up-regulation of the interleukin-12Rβ2-chain and interferon-γ secretion and increased number of forkhead box P3-expressing cells in patients with a history of chronic Lyme borreliosis compared with asymptomatic *Borrelia*-exposed individuals. *Clin. Exp. Immunol.*, 2007, vol. 147, no. 1, pp. 18–27. doi: 10.1111/j.1365-2249.2006.03245.x
9. Kinjo Y., Tupin E., Wu D., Fujio M., Garcia-Navarro R., Benhnia M.R., Zajonc D.M., Ben-Menachem G., Ainge G.D., Painter G.F., Khurana A., Hoebe K., Behar S.M., Beutler B., Wilson I.A., Tsuji M., Sellati T.J., Wong C.H., Kronenberg M. Natural killer T cells recognize diacylglycerol antigens from pathogenic bacteria. *Nat. Immunol.*, 2006, vol. 7, no. 9, pp. 978–986. doi: 10.1038/ni1380
10. Lantos P.M. Chronic Lyme disease // *Infect. Dis. Clin. North. Am.*, 2015, vol. 29, no. 2, pp. 325–340. doi: 10.1016/j.idc.2015.02.006
11. Lopez-Vergès S., Milush J.M., Pandey S., York V.A., Arakawa-Hoyt J., Pircher H., Norris P.J., Nixon D.F., Lanier L. CD57 defines a functionally distinct population of mature NK cells in the human CD56dimCD16⁺ NK-cell subset. *Blood*, 2010, vol. 116, no. 19, pp. 3865–3874. doi: 10.1182/blood-2010-04-282301

12. Moffat C.M., Sigal L.H., Steere A.C., Freeman D.H., Dwyer J.M. Cellular immune findings in Lyme disease correlation with serum IgM and disease activity. *Am. J. Med.*, 1984, vol. 77, no. 4, pp. 625–632. doi: 10.1016/0002-9343(84)90352-8
13. Sigal L.H. Immunologic mechanisms in Lyme neuroborreliosis: the potential role of autoimmunity and antigen mimicry. *Semin. Neurol.*, 1997, vol. 17, no. 1, pp. 63–68. doi: 10.1055/s-2008-1040915
14. Wu L., Van K.L. Natural killer T cells and autoimmune disease. *Curr. Mol. Med.*, 2009, vol. 9, no. 1, pp. 4–14. doi: 10.2174/156652409787314534

Авторы:

Запорожец Т.С., д.м.н., старший научный сотрудник, зам. директора по научной работе НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова, г. Владивосток, Россия;
Сокотун С.А., к.м.н., ассистент кафедры инфекционных болезней Тихоокеанского государственного медицинского института, г. Владивосток, Россия;
Симакова А.И., д.м.н., профессор, зав. кафедрой инфекционных болезней Тихоокеанского государственного медицинского института, г. Владивосток, Россия;
Персиянова Е.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова, г. Владивосток, Россия; зав. лабораторией инновационных медико-биологических исследований и технологий Медицинского объединения ДВО РАН, г. Владивосток, Россия.

Поступила в редакцию 23.05.2018
Отправлена на доработку 12.09.2019
Принята к печати 27.09.2019

Authors:

Zaporozhets T.S., PhD, MD (Medicine), Senior Researcher, Deputy Director for the Science, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation;
Sokotun S.A., PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Infectious Diseases, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation;
Simakova A.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Infectious Diseases, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation;
Persyanova E.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation; Head of Laboratory of Innovative Medical and Biological Research and Technologies of the Medical Department of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russian Federation.

Received 23.05.2018
Revision received 12.09.2019
Accepted 27.09.2019